

## INFECCIÓN DE CÉLULAS CACO-2 DIFERENCIADAS POR BOCAVIRUS HUMANO 1

Toigo D'Angelo AP, Ghietto LM, Adamo MP  
Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella". Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

**Persona que presenta:**

Toigo D'Angelo AP, anitatd08@gmail.com

**Área:**

Básica

**Resumen:**

El Bocavirus humano 1 (HBoV) es un parvovirus respiratorio que puede causar neumonía. El virus ha sido detectado en adenoides, amígdalas y tejido de cáncer de pulmón y colorrectal, lo que sugiere su capacidad de replicarse en distintos tipos celulares. En nuestro laboratorio previamente logramos infectar monocapas de células Caco-2, una línea derivada de cáncer de colon humano con potencial para desarrollar espontáneamente células diferenciadas polarizadas (enterocitos). El objetivo de este trabajo fue comprobar la infección por HBoV de células Caco-2 diferenciadas. Las células Caco-2 fueron mantenidas con repiques cada 7 días, realizando diluciones 1:5 a 1:7. Se incubaron cultivos por 30 días con cambios de medio cada 5 a 7 días, luego de lo cual fueron infectados con HBoV. El inóculo viral se preparó mediante dilución y filtración de aspirados nasofaríngeos de niños con la infección por HBoV confirmada (por PCR y secuenciación) y sin coinfecciones respiratorias. Los cultivos se inocularon con el preparado de virus, posteriormente se recolectaron muestras del medio sobrenadante y de las células adheridas al sustrato, a las 0, 24 y 48 h postinfección. De estas muestras se obtuvieron los ácidos nucleicos mediante columnas de extracción comerciales. Los extractos fueron empleados en reacciones de PCR convencional y PCR en tiempo real. Se realizó la observación microscópica diaria a fin de monitorear la evolución de los cultivos e identificar posible efecto citopático. Se comprobó la infección de las células diferenciadas mediante la detección del genoma viral en los extractos celulares; en las muestras de medio de cultivo sobrenadante no se detectó ADN viral. Los ensayos de cuantificación mostraron un incremento de 4 órdenes de magnitud de la carga viral entre el inicio de la infección y las 48 h postinfección. El aumento en el título viral no se acompañó por ninguna manifestación citopática en las células. En conclusión, demostramos la replicación no lítica de HBoV en la fase aguda de la infección de cultivos de células Caco-2 diferenciadas. Estos resultados justifican estudios futuros con estos cultivos, a fin de dilucidar si se produce una infección productiva con posterior liberación de partículas infectivas de la progenie viral.

**Palabras clave:**

enterocitos; HBoV; DEAE-dextrán; PCR.

Abstract #561

## HUMAN BOCAVIRUS 1 INFECTION OF DIFFERENTIATED CACO-2 CELLS

Toigo D'Angelo AP, Ghietto LM, Adamo MP  
Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella". FCM. UNC

### **Abstract:**

Human Bocavirus 1 (HBoV) is a respiratory parvovirus that can cause pneumonia. The virus has been detected in adenoids, tonsils and cancerous tissues of lung and colon, which suggests its ability to replicate in different cell types. In our laboratory we previously managed to infect cultures of Caco-2 cell monolayers. This line derives from human colon cancer and has the potential to spontaneously develop polarized differentiated cells (enterocytes). The aim of this work was to verify HBoV infection of differentiated Caco-2 cells. The Caco-2 cells were maintained by passages every 7 days, making 1: 5 to 1: 7 dilutions. Cultures were incubated for 30 days with medium changes every 5 to 7 days, after which they were infected with HBoV. The viral inoculum was prepared by dilution and filtration of nasopharyngeal aspirates from children with confirmed sole HBoV infection (by PCR and sequencing). The cultures were inoculated with the virus preparation, samples were then collected from the supernatant medium and cells attached to the substrate at 0, 24 and 48 h postinfection. From these samples the nucleic acids were obtained by commercial extraction columns. The extracts were used in conventional PCR and real-time PCR reactions, to detect and quantify virus replication. Daily microscopic observation was performed to monitor the evolution of the cultures and to identify possible cytopathic effect. The PCR assays demonstrated the virus entry of differentiated Caco-2 cells, since HBoV DNA was observed in nucleic acids extracts of attached cells but no in the supernatant culture medium. The qPCR tests, on the other hand, demonstrated the viral DNA replication, since a 4-fold viral load increase between the onset of infection and 48 h postinfection was detected. The increase in viral titer was not accompanied by any cytopathic manifestation in the cells. In conclusion, we demonstrate the non-lytic replication of HBoV in the acute phase of infection of differentiated Caco-2 cell cultures. Other studies and methods are necessary to elucidate if a productive infection occurs with subsequent release of infective particles from the viral progeny.

### **Keywords:**

enterocytes; HBoV; DEAE-dextran; PCR.